ÜBER DAS WACHSTUMSVERHALTEN VON POLYOMAVIURS-INDUZIERTEN NIERENSARKOMEN BEI RATTEN

KLAUS BERGIUS

1972

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546017_0042

AUS DEM PATHOLOGISCHEN INSTITUT
DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN
Direktor: Prof. Dr. M. Eder

ÜBER DAS WACHSTUMSVERHALTEN VON POLYOMAVIRUS-INDUZIERTEN NIERENSARKOMEN BEI RATTEN

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

KLAUS BERGIUS

aus Reichenberg

München 1972

UNIV. LEIDEN BIBL.

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität München

Berichterstatter:	Priv.-Doz. Dr. K. Prechtel
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. M. Eder
Dekan:	Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 4.7.1972

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
1.0	Einleitung	5-9
1.1	Tumorwachstum in der Humanpathologie	5
1.2	Theorie des exponentiellen Wachstums	6
1.3	Wachstum von experimentellen Ascitestumoren	7
1.4	Wachstum von experimentellen soliden Tumoren	7
1.5	Das hier untersuchte Tumormodell	8
2.0	Material und Methodik	10-14
2.1	Das verwendete Polyomavirus	10
2.2	Versuchstiere	10
2.3	Meßtechnik	11
3.0	Ergebnisse	15-28
3.1	Tumorquote	15
3.2	Herdzahl	18
3.3	Tumorvolumen	20
3.4	Tumorverdoppelungszeit	23
3.5	Latenzzeit	24
3.6	Streuung	26
4.0	Diskussion	29-34
5.0	Zusammenfassung	35
6.0	Literaturverzeichnis	36-40

1.0 EINLEITUNG

Bösartige Geschwülste zeigen große Unterschiede in ihrem autonomen Wachstumsverhalten, mit dem das Lebensschicksal eines Tumorträgers aufs engste verbunden ist. Um quantitative Aussagen über die Lebenschance und den möglichen Zeitpunkt der malignen Entartung machen zu können, wurde versucht, die Wachstumsgeschwindigkeit der einzelnen Geschwülste zahlenmäßig zu erfassen.

1.1 Prinzipiell sind die Möglichkeiten, bei menschlichen Tumoren Wachstumsraten zu ermitteln, beschränkt auf solche Geschwülste, die entweder auf Röntgendarstellungen gut abgegrenzt werden können oder durch oberflächliches Wachstum direkten Messungen zugänglich sind. Eine weitere Selektion tritt dadurch ein, daß es nur bei einer sehr begrenzten Zahl der Fälle gerechtfertigt ist, auf therapeutische Beeinflussung im Beobachtungszeitraum zu verzichten.
Wegweisende Untersuchungen in der Humanpathologie, die sich mit dem soliden Tumorwachstum auseinandersetzen, wurden an Lungengeschwülsten vorgenommen. Beobachtungen an diesen Tumoren ließen COLLINS (5) vermuten, daß jeder individuelle Tumor eine spezifische und gleichbleibende Wachstumsrate aufweise, als deren Parameter er den Begriff: "Tumorverdoppelungszeit" einführte, worunter die Zeit zu verstehen ist, die ein Tumor benötigt, um sein Volumen zu verdoppeln.
COLLINS maß den Tumordurchmesser abgrenzbarer, metastatischer Lungenrundherde an wiederholten Röntgenkontrollen unter gleichbleibenden Voraussetzungen und errechnete daraus die Tumorverdoppelungszeit.
Inzwischen sind Ergebnisse weiterer Wachstumsuntersuchungen an Lungen- (WOLFF 40, OESER et al. 27, GERSTENBERG 11, SPRATT et al. 33, SPRATT et al. 34) sowie an Mamma- (BERGER et al. 4, INGLEBY et al. 18, GERSHON-COHEN et al.10), Colon- (WELLIN et al. 39), Rektum- (SPRATT et al. 31) und Knochentumoren (SPRATT 32) mitgeteilt worden.

1.2 Wachstumskontrollen mit Berechnungen von Tumorverdoppelungszeiten sind im strengen Sinne nur dann berechtigt, wenn ein exponentielles Wachstum vorliegt, was bedeutet, daß die Verdoppelungszeit über den gesamten Entwicklungszeitraum des Tumors konstant bleibt.
Die Theorie des exponentiellen Wachstums geht von folgenden Annahmen aus:

1. Sämtliche Tochterzellen entwickeln sich im Mittel zur Größe der Zellen der vorangegangenen Generation.
2. Die mittlere Generationszeit der Tumorzellen ist während der gesamten Dauer des Wachstums etwa konstant.
3. Eine prozentual zum Tumorvolumen gleiche Menge von Zellen (growth fraction nach MENDELSOHN 25) nimmt an der Vermehrung teil.
4. Zellverluste infolge von Nekrosen, Desquamation und Ausschwemmung stehen in einem konstanten Verhältnis zum Tumorvolumen und damit auch zur Wachstumsfraktion.

Die erste Annahme kann ungefähr als erfüllt betrachtet werden, so daß Abweichungen vom exponentiellen Wachstum auf mangelnde Übereinstimmung mit den restlichen Voraussetzungen zurückzuführen sind. Als Ursache sind bei wachsender Tumorgröße vor allem eine nicht proportionale Zunahme des proliferierenden Tumoranteils, eine gesteigerte Nekrosebildung z. B. infolge nicht schritthaltender Vaskularisierung sowie eine Verlängerung des Generationszyklus möglich, wodurch jeweils eine Verlängerung der Tumorverdoppelungszeit hervorgerufen wird.
So fanden LIEB et al. (24) bei autoradiographischen in-vitro Untersuchungen in der Pheripherie menschlichen Carcinommaterials eine stärkere Markierung als in zentralen Tumorabschnitten, was entweder auf eine Verlängerung des Zellzyklus dort oder auf eine verminderte Zahl an proliferierenden Zellen hinweisen kann.

1.3 In der experimentellen Pathologie liegen fundierte Ergebnisse über das Wachstumsverhalten nicht-solider Geschwülste wie der Ascitestumoren vor, die mit Hilfe von Volumenmessungen der Gesamtflüssigkeit, Zellzählungen und autoradiographischen Bestimmungen der Zellteilung gewonnen wurden. Eine Reihe von Autoren (BASERGA 2, BATHER 1, PATT et al. 28, TILLMANN et al. 38, LALA et al. 22) wiesen für die von ihnen untersuchten Tumorarten ein exponentielles Wachstum zu Beginn der Entwicklung über wenige Tage nach mit anschließend deutlich abnehmender Wachstumsrate.
KLEIN und RÉVÉSZ (20) zeigten in ausführlichen Untersuchungen, daß das Wachstumsverhalten ihrer Ascitestumorstämme als lineare Beziehung dargestellt werden kann, wenn die dritte Wurzel aus der Zellzahl gegen die Zeit aufgetragen wird, was auf einen soliden Tumor übertragen einer linearen Zunahme mit dem Durchmesser entspräche.

Die Ergebnisse an Ascitestumoren können jedoch aufs Wachstum solider Tumoren nur übertragen werden, solange der Stoffwechsel der einzelnen Zellen im soliden Gewebsverband unter gleichen Bedingungen stattfindet, dann kann ein exponentielles Wachstum gewährleistet sein.

1.4 Daten über die Wachstumsrate solider Tumoren in der Literatur sind spärlicher. Sie beziehen sich meist auf Transplantate spontaner Tumoren, die den Versuchstieren subcutan eingepflanzt wurden, so daß direkte, aufeinanderfolgende Messungen an einem Tier durchführbar sind.
STEEL et al. (35) konnte über einen Zeitraum von zehn Verdoppelungszeiten eines Ratten-Mamma-Carcinoms annähernd exponentielles Wachstum feststellen. FRIDELL (9) benutzte Transplantate menschlicher Tumoren, die er in die Backentasche von Hamstern mit anschließender Cortisongabe einpflanzte und fand ein exponentielles Wachstum in der Dauer von etwa acht Tagen. Ähnliches stellte BASERGA (3) an Lungenmetastasen eines Ascitestumors mit einer Wachstumsfraktion von 100 % fest.

Hiervon abweichende Ergebnisse liefern KLEIN und RÉVÉSZ (20), die für solide Wachstumsformen eines untersuchten Ascites-Sarkoms eine ständig zunehmende Verdoppelungszeit fanden, die nach demselben Gesetz wie die Ascitesform sich vergrößerte.
DETHLEFSEN (6) beobachtete an einem großen Kollektiv von 300 Transplantaten eines Mäuse-Brusttumors tumorgrößenabhängige Wachstumsverlangsamung.

1.5 Aufgabe der vorliegenden Arbeit ist es, Wachstumsmessungen solider Geschwülste an einem eigenen Modell eines virusinduzierten, autochthonen Tumors durchzuführen. Das verwendete Polyomavirus (PV) gehört zu den onkogenen Viren der DNS-Gruppe, das beim Nager eine Vielzahl verschiedenartiger Geschwülste hervorruft (Übersicht bei GEORGII 12).

Unterschiedliche Wirkungen verschiedener Polyomalinien bestehen offensichtlich auchbei vergleichbaren Tieren einer Spezies. So können bei Ratten ganz verschiedene mesenchymale Tumoren beobachtet werden (FLOCKS et al. 8, KIRSTEN et al. 19, EDDY et al. 7, GRAFFI et al. 16), während GEORGII und Mitarbeiter mit der Münchener PV-Linie bei Wistar-Ratten fast ausschließlich Nierensarkome erzeugten, die innerhalb von 50 bis 90 Tagen zum Tode der Tiere durch Urämie oder Nierenblutungen führten.
Die onkogene Wirkung des Polyomavirus beschränkt sich auf eine kurze perinatale Toleranzzeit von 72 Stunden, in der offensichtlich das immunologische System überrannt werden kann (GEORGII et al. 15). Später vorgenommene Infektionen erzeugen keine Geschwülste mehr. Das Virus selbst ist ausschließlich während der ersten 5 Tage nach der Infektion in verschiedenen Geweben der Ratte nachweisbar (PRECHTEL et al. 29). Bis zu diesem Zeitpunkt muß die Cancerisierung der empfänglichen Zellen abgeschlossen sein.
Erste Mikrosarkombildungen werden nach Infektion mit hohen PV-Dosen nicht vor dem 16. Tag lichtmikroskopisch nachweisbar (PRECHTEL et al. 30).

Die onkogene Wirkung ist von der Virulenz bzw. der Konzentration der Virusflüssigkeit abhängig, so daß auch der Schwellenwert zur Tumorentwicklung ermittelt werden konnte (GEORGII et al. 15).

Das Polyomavirus hat bei Ratten im Gegensatz zu Mäusen einen ausgesprochenen transformativen Zelleffekt an den Zellen des Interstitiums [illegible] Nierenrinde und Nierenmark, in der sog. Wachstumszone (GEORGII et al. 14). Das histologische Bild der Tumoren entspricht mäßig polymorphen, gering faserbildenden Spindelzellensarkomen, die ein auffallend expansives und [illegible] gering infiltratives Wachstum zeigen, wenn von den frühesten, eben lichtmikroskopisch erfaßbaren Stadien abgesehen wird. Somit wird über ein wohl definiertes und autochthones Tumorsystem verfügt, bei dem der Zeitraum der Transformation zur Tumorzelle und damit ungefähr das jeweilige Alter des Tumors bekannt ist. Histologisch ist das Sarkom gut abgrenzbar, seine Entwicklung bis zum Tode des Trägertiers verläuft in kurzer Zeit, und die Tumoraussaatrate ist groß. Daher bieten sich günstige experimentelle Voraussetzungen für die Untersuchung des formalen Geschwulstwachstums.

Die Bestimmung des Tumorvolumens in Abhängigkeit vom Wachstumsalter und Virusdosis, wie es in dieser Arbeit durchgeführt wurde, kann die oben angeführten Voraussetzungen für ein exponentielles Wachstum nur summarisch erfassen. Wird ein exponentielles Wachstumsverhalten gefunden, so kann es die erwähnten Annahmen stützen, während ein davon abweichender Verlauf durch andere Untersuchungsmethoden wie Autoradiographie näher analysiert werden muß, um das Abweichen einzelnen oder mehreren Faktoren zuordnen zu können.

2.0 MATERIAL und METHODIK

2.1 Virus:

Das SE-Polyomavirus (PV) wurde 1962 von Dr. S.E. Stewart übernommen und auf Mäuse-Embryonalkulturen weitergezüchtet. Das zur Injektion verwendete Virus (PV-Charge 1489 und PV-Charge 1496) wurde nativ unmittelbar bzw. nach maximaler Verweildauer von 3 Tagen bei + 4°C aus den Kulturflaschen nach Abschleudern des Zelldetritus verwendet. Verwendung fanden 5 verschiedene Verdünnungsgrade des Virus (1:1, 1:10, 1:50, 1:100, 1:500).

2.2 Versuchstiere:

Wistar-Ratten wurden als trächtige Tiere (1. Tragzeit) einer einfachen Vermehrungszucht (Wistar AF/Han) von der Versuchstieranstalt Hannover am 19. Tag nach der Deckung übernommen. Die neugeborenen Ratten wurden innerhalb der ersten 20 Lebensstunden mit 0,4 ml des Virus subkutan unter der Rückenhaut infiziert. Die Tiere wurden in Makrolon-Käfigen gehalten und mit Ratten-Preßfutter und Leitungswasser über Saugflaschen ernährt. Jeweils 1 Wurf (durchschn. 10 Tiere) wurde in einem Käfig beobachtet. Für die makroskopische und mikroskopische Auswertung wurden zu jedem Untersuchungszeitpunkt von jedem Wurf Tiere entnommen, so daß eine einheitliche Streuung der Wurffamilien gesichert war.

Von insgesamt 439 Ratten wurden im Durchschnitt je 88 Tiere mit einem der 5 verschiedenen Verdünnungsgrade infiziert. Von dieser Zahl wurde zu 4 Terminen (am 25., 30., 40. und 50. Lebenstag) je 22 Ratten getötet, so daß für jeden der angeführten Meßpunkte eine Serie von etwa 110 Tieren vorliegt, die zu gleichen Teilen mit den 5 PV-Konzentrationen inokuliert ist.

Rechte und linke Niere wurden getrennt untersucht. Geschlechtsunterschiede wurden nicht berücksichtigt, da sich in Vorversuchen keine Geschlechtsdisposition ergeben hatte.

Die Nieren wurden sofort nach dem Tode der Tiere (Genickbruch) ohne weitere grobe Gewebsanhängsel entnommen und die Organgewichte mit einer Feinwaage in g bestimmt. Das spezifische Gewicht der Nieren wurde mehrmals bestimmt; es lag immer bei 1,0 - 1,1.
Die histologische Aufarbeitung erfolgte in üblicher Weise mit Formolfixierung und Paraffineinbettung. Jede Niere wurde halbiert und jede Hälfte in 4 Stufenschnitten (Schnittdicke ca. 5) mit angenähert gleichbleibenden Abständen mikroskopisch untersucht.

2.3 Meßtechnik:
Ermittelt wurden:

1. die Zahl der tumortragenden Tiere
2. die Zahl der Einzelherde jeder Niere
3. das Gesamtvolumen der Sarkommasse jeder Niere.

1. Die histologischen Schnitte wurden nach Sarkombildungen durchmustert und so die Tumorquote erstellt.
2. Bei der Bestimmung der Zahl der Einzelherde jeder Niere lassen sich maximal 8 Sarkomzentren abgrenzen. In den wenigen Fällen, wo eine Vielzahl kleinster Herde nicht exakt determiniert werden kann, wird eine Herdzahl von 8 angenommen. Die mittlere Herdzahl einer Versuchstiergruppe wird so bestimmt, daß jeweils die größte Herdzahl, die in einem der 8 Schnitte einer Niere festgestellt wird, zur Berechnung des arithmetischen Mittels herangezogen wird. Ein auf diese Art erstelltes Ergebnis bietet nicht den maximalen Wert, da in einem einzelnen Schnitt nicht die Gesamtzahl aller Sarkomherde einer Niere erfaßt sein muß.
3. Zur Volumenbestimmung wird das Punktzählverfahren angewendet, das im Ansatz auf GLAGOLEV (zitiert nach NEUER 26) zurückgeht und von HENNIG (17) weiterentwickelt wurde. Hiernach wird jeder Schnitt in zahlreichen, aneinandergereihten Gesichtsfeldern mit einem Zählokular (Leitz, Abb. 1) lückenlos überdeckt.

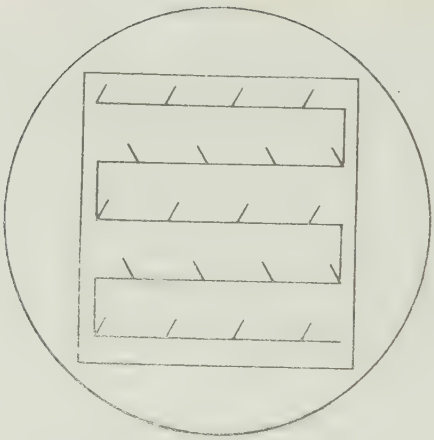

Abb. 1: LEITZ-Okular mit Zählpunktnetz

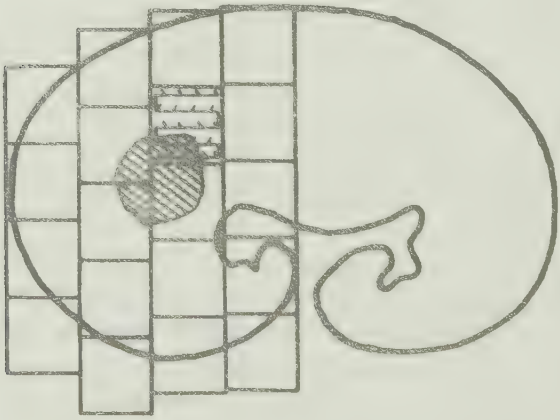

Abb. 2: Schematischer Nierenquerschnitt mit Tumorherd, z. T. mit Zählokulareinstellungen überdeckt

Die vom Auge auf das Präparat projizierten Trefferpunkte des Okulars werden dem Nierengewebe bzw. Sarkomgewebe zugeordnet (Abb. 2). Das Rechteck des Okulars bedeckt bei der verwendeten Lupenvergrößerung eine Fläche des Objektes von 3,7 mm^2, woraus sich für jeden der 20 Punkte ein Flächenäquivalent von 0,185 mm^2 ergibt. Mit dieser Punktzählmethode kann der prozentuale Anteil der Sarkomflächen zur Nierenfläche pro Schnitt errechnet werden.

Eine fehlerstatistische Berechnung muß bei den hier angestellten Versuchen unterbleiben, da der Meßfehler im Verhältnis zu der großen Zufallsstreuung im Untersuchungsmaterial gering ist.

Für die Bestimmung des Gesamttumorvolumens einer Niere wird die Gleichung nach dem Prinzip von DELESSE (zitiert nach HENNIG 17) angesetzt:

$$V_N : V_T = \lesssim F_N : \lesssim F_T \qquad (1)$$

Dabei entspricht das Nierenvolumen V_N dem Gesamtnierengewicht, das unmittelbar nach dem Tode bestimmt worden war, da das spezifische Gewicht der Nieren mit und ohne Sarkomgewebe bei 1,0 bis 1,1 liegt. Die Werte für $\lesssim F_N$ und $\lesssim F_T$ ergeben sich aus der Summe der Trefferzahlen von allen acht Schnitten einer Niere, die mit dem Flächenwert von 0,185 mm^2 multipliziert werden.

Somit entspricht

$$V_T = V_N \cdot \frac{\lesssim F_T}{\lesssim F_N} \qquad (2)$$

Die Tumorverdoppelungszeit (t_D) eines exponentiellen Wachstumsmodells läßt sich aus der Gleichung

$$V_t = V_o \cdot 2^{t_D} \qquad (3)$$

entwickeln. Diese Gleichung gibt die Größe eines Volumens zum Zeitpunkt t an, das sich im Zeitraum von t_o bis t vermehrt hat. V_o ist die Größe des Volumens zum Zeitpunkt

von t_o. Nach t_D aufgelöst ergibt sich:

$$t_D = \frac{t \cdot \log 2}{\log V_t - \log V_o} \qquad (4)$$

Voraussetzung für ein sinnvolles Anwenden der Gleichung der Tumorverdopplungszeit ist es, daß während des gemessenen Zeitraumes die Tumorverdoppelungszeit konstant bleibt. Im vorliegenden Fall wurden an 4 verschiedenen Zeitpunkten Messungen durchgeführt. Als erste Näherung wird ein konstantes Wachstum zwischen den ermittelten Werten angenommen.

Die Berechnungen des Volumens und der Tumorverdoppelungszeit sollen nicht dazu dienen, das absolute Tumorwachstum aufzuzeigen, sondern in vergleichenden Werten das Wachstumsverhalten darstellen.

3.0 ERGEBNISSE

Um Aufschlüsse über das Tumorwachstum in Abhängigkeit von Virusdosis und Zeit zu erhalten, wurde eine große Zahl von Ratten gleichmäßig mit 5 verschiedenen PV-Verdünnungsgraden infiziert und zu 4 verschiedenen Zeitpunkten getötet.

3.1 Tumorquote

Die Trefferquote an tumortragenden Tieren nimmt zu jedem Termin mit steigender PV-Verdünnung ab (Tab. 1, Abb. 3+4), wobei unter anderem die große Diskrepanz an den beiden ersten Meßterminen zwischen den Verdünnungen 1:10 und 1:50 hervorzuheben ist.

	25. Tag		30. Tag	
	TQ	BTQ	TQ	BTQ
PV nativ	19/24 = 79 %	17/19 = 89 %	22/23 = 96 %	19/22 = 86 %
PV 1:10	17/25 = 68 %	10/17 = 59 %	17/23 = 74 %	14/23 = 61 %
PV 1:50	6/25 = 24 %	0/6 ---	5/23 = 22 %	0/5 ---
PV 1:100	1/8 = 13 %	0/1 ---	1/24 = 4 %	0/1 ---
PV 1:500	1/21 = 5 %	0/1 ---	1/23 = 4 %	0/1 ---
	40. Tag		50. Tag	
	TQ	BTQ	TQ	BTQ
PV nativ	17/18 = 94 %	15/17 = 88 %	12/17 = 71 %	8/12 = 67 %
PV 1:10	14/25 = 56 %	12/14 = 86 %	15/26 = 58 %	9/15 = 60 %
PV 1:50	10/23 = 44 %	4/10 = 40 %	9/24 = 38 %	2/9 = 22 %
PV 1:100	6/23 = 26 %	1/6 = 17 %	6/23 = 26 %	0/6 ---
PV 1:500	1/21 = 5 %	0/1 ---	2/20 = 10 %	1/2 ---

Absolute und prozentuale Zahl von Nierensarkomen bei Ratten nach perinataler Inokulation von PV mit 5 verschiedenen Konzentrationen.
TQ = Tumorquote unilateral
BTQ = Tumorquote bilateral, bezogen auf TQ

Tab.1: Tumorquoten zu 4 verschiedenen Meßzeitpunkten

Beim Vergleich der Trefferzahl lassen sich grob zwei Gruppen unterscheiden:
Bei den zwei höchsten Konzentrationen sind die Tumoren überwiegend, das heißt mit 70 bis 80 % schon am 25. Tage

nachweisbar, eine mäßige Steigerung findet noch bis zum 30. Tage statt, danach fallen ihre prozentualen Werte unter das Ausgangsniveau, wofür eine schlüssige Erklärung fehlt. Die größten Sarkome, die durch diese zwei PV-Konzentrationen erzeugt wurden, haben spätestens bis zum 30. Tage ein Ausmaß erreicht, das ihr Erkennen im Lichtmikroskop erlaubt. Das schließt nicht aus, daß ebenfalls induzierte kleinere Sarkome zu einem späteren Termin, z.B. am 40. Tag mit einer entsprechend verlängerten Latenzzeit manifest werden.

Anders verhalten sich die Tumoren der niedrigen Konzentrationen 1:50 und 1:100, bei denen ein Maximum erst am 40. Tage festgestellt wird. Die Sarkome, die diese Steigerung der Tumorquote am 40. Tage hervorrufen (für PV 1:50 = 59 % der maximalen Tumorquote, für PV 1:100 = 38 %), überschreiten deutlich später, nämlich mit einer Verlängerung der Latenzzeit von etwa 10 Tagen gegenüber den vorher erwähnten die Grenze zur lichtmikroskopischen Sichtbarkeit.

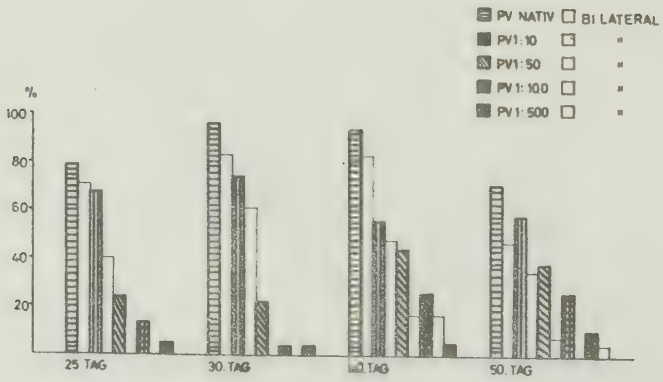

Abb. 3: Relative Tumorquote in Abhängigkeit von Versuchsdauer und Virusdosis mit Angabe der jeweiligen Menge der bilateralen Tumoren.

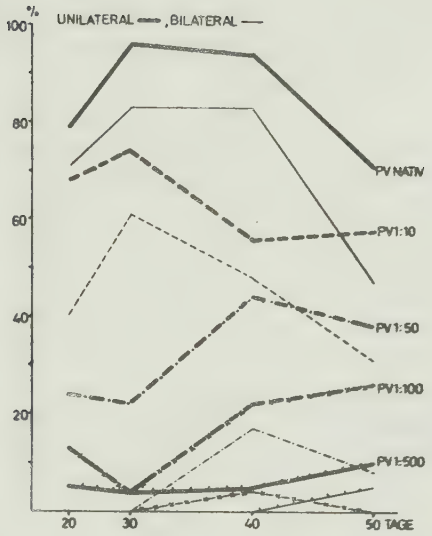

Abb. 4: Relative Tumorquote in Abhängigkeit von Versuchsdauer und Virusdosis mit Darstellung der Zahl der bilateralen Tumoren für jede PV-Konzentration

Bereits aus diesem Verhalten läßt sich ablesen, daß die Altersverteilung der durch diese PV-Mengen induzierten Tumoren sehr breit gestreut ist und sich über einen Zeitraum von mindestens 15 Tagen hinzieht.
Der Konzentrationsabfall im Bereich von 1:10 und 1:50 bewirkt dabei eine auffällige Verzögerung der Tumormanifestation.
Die in der Verdünnung 1:500 enthaltene Virusmenge besitzt so gut wie keine transformative Potenz. Die in Tabellen angeführten Mittelwerte dieser Verdünnung sind in Klammern gesetzt, da in einem Fall zwei Treffertiere, sonst aber jeweils nur eines zur Verfügung stand.

Die Häufigkeit von doppelseitigen Nierentumoren ist der Summe von ein- und doppelseitigen gegenüber reduziert, läuft dieser aber in einem Abstand von 10 % bis 30 % der Zahl der jeweiligen Versuchstiere parallel (Abb. 3+4).

3.2 Herdzahl

Die durchschnittliche Zahl der Einzelherde pro sarkomhaltiger Niere nimmt mit fallender PV-Konzentration ab (Tab. 2, Abb. 5).

Tage	25	30	40	50
PV nativ	3,8	3,4	3,3	2,3
PV 1: 10	2,5	2,1	2,9	2.2
PV 1: 50	1,2	1,0	1,4	1,1
PV 1: 100	1,0	1,0	1,3	1,0
PV 1: 500	(1,0)	(1,0)	(1,0)	(1,0)

Tab. 2: Arithmetische Mittel der Anzahl der Sarkomknoten pro Rattenniere in Abhängigkeit zur PV-Dosis und Versuchsdauer

Die Herdzahl, die durch natives PV verursacht wird, geht vom ersten Untersuchungstermin an mit wachsendem Alter der Tiere zurück. Der größte Teil der induzierten Herde ist bereits am 25. Tag sichtbar. Aus den anfangs noch bandförmigen Sarkomstrukturen, die eine maximale Herdzahl von 8 bedeuten, schälen sich einzelne Foci heraus, möglicherweise ein Effekt der versuchstiereigenen Abwehr. Die weitere Reduzierung zum 50. Tag hin läßt sich auf ein Konfluieren der Herde zurückführen.

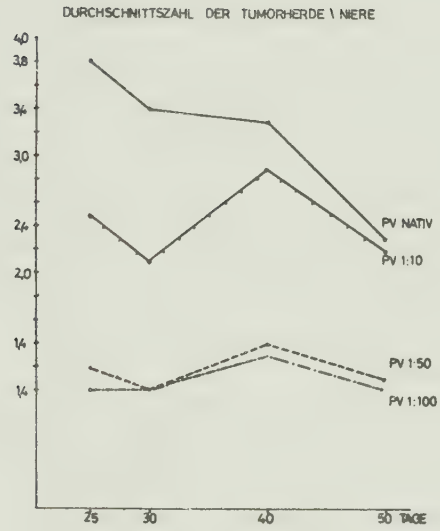

Abb. 5: Darstellung der mittleren Zahl der Tumorknoten pro Rattenniere in Abhängigkeit zur PV-Dosis und Versuchsdauer

Die in der Verdünnung 1:10 erzielte Herdzahl am 30. Tag mit ihrem unverhältnismäßig niedrigen Wert läßt Zweifel an ihrer Verwertbarkeit aufkommen, wofür einmal die Diskrepanz zur Angabe am 40. Tag spricht, zum anderen die geringe Wahrscheinlichkeit, daß eine erhebliche Herdzahlvermehrung ohne eine gleichzeitige, wesentliche Steigerung der Tumorquote auftritt, da eine vermehrte Herdzahl sonst nur in zeitlichem Zusammenhang mit einer deutlichen Tumormanifestation zu beobachten ist.

Der mit nur geringer Abweichung an die native Konzentration angenäherte Verlauf zwischen den beiden letzten Meßzeitpunkten ist deutlich und mag spekulativ auch für den Versuchsbeginn zutreffend sein.
Daraus könnte wiederum in Bezug auf ihre Herdzahlen eine Zweiteilung aller Tumornieren resultieren wie bei der Entwicklung der Tumorquoten, eine Gruppe mit größerer Herdzahl und die zweite mit jeweils wenig mehr als einem Sarkomknoten.
Die mit den Verdünnungen 1:50 und 1:100 applizierten Virusmengen vermochten kaum mehr als einen Herd in einer betroffenen Niere hervorzurufen. Eine leichte Vermehrung besteht jedoch am 40. Tag, was als verlängerte Latenzzeit gedeutet wird und durch die Erhöhung der Tumorquote zu diesem Zeitpunkt bewirkt wird.
Bei 12 von 41 (= 29 %) der jungen Tumortiere (25. und 30. Tag) findet sich in der unverdünnten Konzentration eine bandförmige Anordnung der Sarkomstrukturen, aus denen sich innerhalb weniger Tage kleine solitäre Sarkomquoten herauskristallisieren. Ein hoher Prozentsatz transformierter Zellen wird demnach wieder zerstört.

3.3 Tumorvolumen

Die arithmetischen Mittel des Gesamtvolumens der Sarkome, d. h. der Summe der Volumina aller Einzelherde in einer Niere, die für die Rattenkollektive in Abhängigkeit von Zeit und Viruskonzentration ermittelt wurden (Tab. 3), sind in Abb. 6 graphisch dargestellt.
Die direkten Verbindungslinien der Werte für die Konzentrationen 1:1, 1:50 und 1:100 beschreiben bei semilogarithmischem Auftrag des Volumens gegen die Zeit nach oben leicht konvexe Kurven, wie sich auch aus den ansteigenden Werten der Tumorverdoppelungszeit für die 3 Intervalle in Tabelle 4 ablesen läßt.

Tage	25	30	40	50
PV nativ	31	99	591	2303
PV 1 : 10	12	15	489	1649
PV 1 : 50	(0, 5)	6	145	472
PV 1 : 100	(0, 3)	(1)	24	182
PV 1 : 500	(0, 5)	(1)	(2)	(349)

Tab. 3: Arithmetische Mittelwerte des Sarkomvolumens pro Rattenniere in Abhängigkeit von PV-Dosis und Versuchsdauer
( ) = Mittelwert aus wenigen Einzelwerten

Tage	25. - 30.	30. - 40.	40. - 50.
PV nativ	3, 0	3, 9	5, 1
PV 1 : 10	15, 5	1, 2	5, 7
PV 1 : 50	1, 4	2, 2	5, 9
PV 1 : 100	-	2, 2	3, 4

Tab. 4: Tumorverdoppelungszeit der Nierensarkome in Abhängigkeit von PV-Dosis und Versuchsdauer bei Annahme eines insgesamt nicht exponentiellen Wachstums

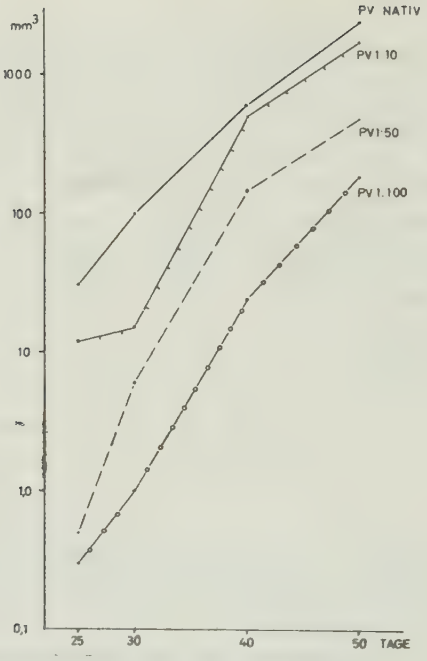

Abb. 6: Semilogarithmische Darstellung des mittleren Tumorvolumens (mm^3) pro sarkomhaltiger Niere in Abhängigkeit von Versuchsdauer und Virusdosis

Mit gleicher Berechtigung lassen sich jedoch aus den Kurven für die PV-Konzentrationen 1:1 und 1:100 bei einer Abweichung von den gefundenen Werten um 20 bzw. 30 % Geraden konstruieren. Streubreiten bis zu dieser Größenordnung sind in den vorliegenden Ergebnissen nicht auszuschließen. Den Geraden entspricht eine konstante Verdoppelungszeit.
Für die Verdünnung 1:50 ist auch mit einer Abweichung von 50 % keine Gerade bei semilogarithmischem Auftrag zu erzielen. Ein exponentielles Wachstum der Tumoren dieser Tiergruppe über den gesamten Untersuchungszeitraum dürfte auch im Rahmen der Werte dieser Arbeit unwahrscheinlich sein.

Zum Zeitpunkt des ersten Untersuchungstages ist das Volumen der durch natives PV induzierten Tumoren merkbar fortgeschritten gegenüber denen bei niedrigeren Konzentrationen.
Die Werte der PV-Konzentration 1:10 beschreiben bei graphischer Wiedergabe einen deutlichen Knick, der auf verhältnismäßig geringem Zuwachs zwischen dem 25. und 30. Tag beruht. Im nächsten Intervall derselben Konzentration findet sich das schnellste Tumorwachstum, das im Rahmen dieser Arbeit ermittelt wurde, parallel zu einer sprunghaften Herdvermehrung, wie oben bereits erwähnt. Dieses Verhalten steht im Gegensatz zur Sarkomentwicklung aller übrigen Tiergruppen und dürfte kontrollbedürftig sein.
Wiederum darf als Vermutung eine Volumenvermehrung zu Versuchsbeginn entsprechend der am 40. und 50. Tage angenommen werden, nämlich nur gering vermindert gegenüber der unverdünnten PV-Menge. Dementsprechend könnte für das Volumenwachstum eine mittlere Latenzzeit (Ausführungen weiter unten) vorliegen, die um weniger als 5 Tage gegenüber der vorangegangenen PV-Konzentration verlängert ist. Damit ist auch der frühe Gipfel der Tumorquote zu vereinbaren. Insgesamt spricht einiges dafür, daß eine Verminderung der Infektionsdosis auf ein Zehntel der Ausgangsmenge keine entscheidende Abnahme der 3 gemessenen Größen zur Folge hat. Die ermittelten Volumenwerte gestatten in der begrenzten Beobachtungszeit keine eindeutige Entscheidung in der Frage des exponentiellen Wachstums.

3.4 Tumorverdoppelungszeit

Die Tumorverdoppelungszeit (Tab. 4), errechnet ohne Korrektur der Werte hinsichtlich eines möglichen exponentiellen Wachstums nach Gleichung (4), ist auf der Abb. 6 jeweils der Steigung der entsprechenden Kurvenabschnitte umgekehrt proportional. Die Zahlen bedeuten nur einen Mittelwert, die abrupte Änderung ihrer Dauer zu den Meßterminen ist artifiziell, eine kontinuierliche Verlängerung dürfte dem natürlichen Ablauf nahe kommen. Bei Annahme eines exponen-

tionellen Wachstums für die durch die PV-Konzentrationen 1:1 und 1:100 induzierten Sarkome betragen die zugehörigen Tumorverdoppelungszeiten für den gesamten Beobachtungszeitraum 4,0 bzw. 2,7 Tage.
Für ein nicht streng exponentielles Wachstum zeigen die Tumorverdoppelungszeiten der Verdünnung 1:1 und 1:100 eine kontinuierlich zunehmende Wachstumsverlängerung.

3.5 Latenzzeitdifferenz

Die 4 verschiedenen PV-Infektionsdosen bewirken, daß zu jedem Untersuchungstermin 4 unterschiedliche Größen der mittleren Sarkomvolumina vorliegen (Abb. 6). Wird willkürlich eine bestimmte Volumengröße fixiert, so läßt sich ablesen, daß die Zeit, die die Tumoren zum Erreichen dieses Wertes benötigen, mit fallender PV-Konzentration wächst. Diese Zeitdifferenz, die zur Entwicklung einzelner Sarkomgrößen für die verdünnten Viruslösungen gegenüber der unverdünnten beansprucht wird, wird hier Latenzzeitdifferenz genannt.
Diese Differenzen für 4 willkürliche Volumenwerte (Tab. 5) verhalten sich annähernd konstant, soweit keine Werte der Verdünnung 1:10 berücksichtigt werden müssen. Für den Volumenwert 480 mm^3 in der Verdünnung 1:100 wurde extrapoliert. Gleichbleibende Differenzen bedeuten gleiche Wachstumsgeschwindigkeit in identischen Tumorgrößenbereichen, unabhängig von der transformierenden Virusmenge. Wachstumskurven mit exakt konstanten Latenzzeitdifferenzen müssen sich durch Parallelverschiebung um den Wert der Differenz zur Deckung bringen lassen.
Die auf einen Tag exakten Werte der relativen Latenzzeit sind nur als Differenz von artifiziell vereinheitlichten Volumenangaben gewonnen worden, die in Wirklichkeit eine breite Streuung aufweisen und Bestimmungen von Latenzzeiten nur in weiten Bereichen, so z. B. von 1 bis 15 Tagen zulassen, wie sich aus dem Verhalten der Tumorquoten der geringen Infektionsdosen ergibt.

PV-Konzentration	1:1	1:10	1:50	1:100
1:1		7	10	16
1:10			3	9
1:50				6

Volumen 30 mm^3

PV-Konzentration	1:1	1:10	1:50	1:100
1:1		5,5	9	17
1:10			3,5	12
1:50				8,5

Volumen 100 mm^3

PV-Konzentration	1:1	1:10	1:50	1:100
1:1		4	8,5	16,5
1:10			5	13
1:50				8,5

Volumen 180 mm^3

PV-Konzentration	1:1	1:10	1:50	1:100
		1	11	16-19
			10	15-18
				5-8

Volumen 480 mm^3

Tab. 5: Angaben von Latenzzeitdifferenzen in Tagen zwischen den 4 PV-Konzentrationen, abgelesen aus Abb. 6 für 4 willkürlich gewählte Volumenwerte.

Die Latenzzeitdifferenzen zwischen den Volumenwerten der PV-Dosen 1:1 und 1:10 schwanken stark entsprechend dem unterschiedlichen Kurvenverlauf. Gesteht man den von der Infektionsmenge 1:10 induzierten Sarkomen irgendeine Aussagekraft zu, so dürfte das die Werte im späteren Verlauf am 40. und 50. Tag betreffen. Wie bereits Spekulationen angestellt wurden, ergäbe das eine Latenzzeitdifferenz von weniger als 5 Tagen.

Der entsprechende Wert für die PV-Verdünnung 1:50 verhält sich recht konstant und beträgt 10 Tage, was das Mittel des Bereiches von 6 bis 15 Tagen darstellt, über den sich diejenigen Latenzwerte von 60 % der Tumoren erstrecken, die sich aus der Entwicklung von Tumorquote und Herdzahl ablesen lassen.
Der ebenfalls konstante Wert für die relative Latenzzeit zwischen den Virusmengen 1:1 und 1:100 von 16 Tagen fällt recht genau mit den entsprechenden Höchstwerten in Tumorquote und Herdzahl zusammen.

3.6 Streuung

Die bereits erwähnte Streuung äußert sich folgendermaßen: Die Einzelwerte des Tumorgesamtvolumens jeder einzelnen Niere (Abb. 7), aufgetragen für PV-Konzentration und jeden Termin, bilden keine Gauß-sche Normalverteilung, sondern der größte Anteil der Werte liegt in dem Bereich der geringsten Volumina, die unter entsprechenden veränderlichen Bedingungen gewonnen wurden. Zu größeren Volumina hin nimmt die Anzahl der Tumornieren für jede Kategorie rasch bis auf 1 ab, zieht sich aber in dieser geringen Häufigkeit noch über ein weites Feld.
Zusätzlich existiert in einem großen Teil der Kollektive der 3 höheren Konzentrationen ein Tier, dessen Tumor in seinem Wachstum den nächst kleineren um den Faktor 2 bis 4, das Volumenmittel von 50 % der restlichen Tiere mit kleinen Tumoren jedoch um den Faktor 10 bis 40 übertroffen hat (Tab. 6). Selbst für die Konzentrationen 1:100 und 1:500 mit ihren geringen Trefferquoten liegt am 50. Tag jeweils ein Tumorvolumen von einer Dimension vor, wie sie für die meisten Tumornieren der Konzentrationen 1:1 und 1:10 am selben Tag zutrifft.
Die mehrfach erwähnten, aus dem Rahmen fallenden frühen Volumenwerte der Konzentration 1:10 unterscheiden sich in ihrer Häufigkeitsverteilung keineswegs von denen anderer Verdünnungsgrade (Abb. 7). Der arithmetische Mittelwert von 12 mm^3 am 25. Tag wird nicht unverhältnismäßig in die Höhe getrieben, ebenso ist am 30. Tag kein erwarteter hö-

herer Wert ausgefallen, sondern alle Werte scheinen zu diesem Termin etwa um den Faktor 4 zu klein geraten zu sein.
Aus dieser Darstellung ergibt sich, daß bindende Aussagen aufgrund dieser Werte nicht möglich sind.

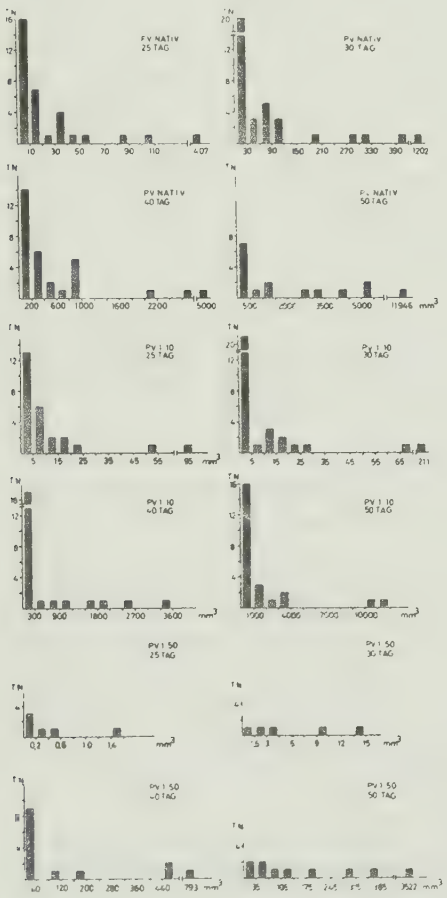

Abb. 7: Darstellung der Einzelwerte der Tumorvolumina (mm^3) pro PV-Konzentration und Untersuchungstag, aus denen die Mittelwerte resultieren (Tab. 3). Ordnung nach Größenkategorien zur Demonstration der Streuung

PV 1:1

Tag	Wert	Faktor A	Faktor B
25	407	4	40
30	1202	3	40
40	5000	2	12
50	11946	2	12

PV 1:10

Tag	Wert	Faktor A	Faktor B
25	95	2	20
30	211	3	42
40	--		
50	--		

PV 1:50

Tag	Wert	Faktor A	Faktor B
25			
30			
40	793	2	20
50	3522	10	35

PV 1:100

Tag	Wert	Faktor A	Faktor B
50	893	11	11

PV 1:500

50	984	16	--

Tab. 6: Aufstellung aller Tumorvolumen<u>einzel</u>werte von exzessiver Größe für jede PV-Konzentration und jeden Meßzeitpunkt

Faktor A: Mit diesem Faktor übertrifft der angegebene Wert den nächst niedrigen Volumenwert desselben Tumorkollektivs

Faktor B: Mit diesem Faktor übertrifft der angegebene Wert das Volumenmittel von 50 % der Tiere desselben Rattenkollektivs

4.0 DISKUSSION

Das formale Wachstumsverhalten eines soliden, autochthonen Tumors sollte im Experiment untersucht werden. Als günstiges Modell bieten sich die Nierensarkome bei Ratten an, wie sie nach Infektion mit der Münchner PV-Linie fast ausschließlich und mit hoher Tumorausbeute erzielt werden können.
Auffällig an diesem System ist die Latenzzeit von mindestens 10 Tagen zwischen Cancerisierung und Stromazellen und dem Zeitpunkt der ersten lichtmikroskopischen Manifestation, während der keine gesteigerte Stoffwechsel- oder DNS-Syntheserate vorliegt (GEORGII et al. 13, ZOBL et al. 41). Auf eine multizentrische Cancerisierung weisen bandförmige Tumoranordnungen hin, wie sie bei hoher Virusdosis bis zum 30. Tag gefunden werden. Aus ihnen entwickelt sich eine begrenzte Zahl von Sarkomknoten (PRECHTEL 30).
Als unabhängig veränderliche Größen in dem vorliegenden Versuchssystem wurden Zeit (4 Meßtermine) und Virusdosis (5 Abstufungen) gewählt, als abhängige Größen ließen sich bestimmen: die Tumorquote, die Anzahl der Sarkome pro Niere und das Volumen der gesamten Sarkommasse einer Niere. Schlüsse auf die Dauer der Tumorverdoppelungszeit und der Latenzzeit sind möglich.
Die Auswertung der Ergebnisse wird durch ein Problem eingeschränkt:
Jede Messung, vor allem aber die des Tumorvolumens, weist eine erhebliche Streuung der Einzelwerte auf. Genetische Faktoren im Sinne einer verminderten Abwehr dürfen als Ursache bei dem gewählten Randomisierungsverfahren nicht in Frage kommen.

Gefunden wurde eine Bestätigung folgender früherer Beobachtungen an demselben Tumorsystem (GEORGII et al. 13-15, PRECHTEL et al. 30):
Der multizentrische Beginn des Tumorwachstums und von der PV-Dosis abhängige Werte von Tumorquote, Sarkomherden, Gesamttumorvolumen und Manifestationszeit.

Eine exakte Aussage über den Wachstumsmodus des Sarkomvolumens läßt sich wegen der erheblichen Streuung nicht machen. Ein exponentielles Wachstum für die durch PV 1:1 und 1:100 induzierten Sarkome mit zugehöriger Verdoppelungszeit von 4,0 bzw. 2,7 Tagen über den gesamten Beobachtungszeitraum liegt im Bereich der Werte.

Wird vom Beginn des Wachstums an für die Sarkome der unverdünnten PV-Dosis eine konstante Tumorverdoppelungszeit von 4 Tagen angenommen, so hätten in der Zeit zwischen frühester Manifestation und dem ersten Meßtermin nur wenig mehr als zwei Verdoppelungen stattfinden können. Bei Wachstumsbeginn müßten bei dieser Annahme bereits Sarkomvolumina von etwa 6,5 mm^3 vorgelegen haben, eine recht große Zahl, die von einem auf den anderen Tag sichtbar werden sollte.

Eine anfangs sehr geringe Tumorverdoppelungszeit im Bereich der autoradiographisch gemessenen Generationszeit von 20 bis 36 Stunden (LANG et al. 23), die dann vor dem Meßbereich eine erhebliche Verlängerung erfährt und anschließend exponentielles Wachstum über einen längeren Zeitraum dokumentiert, erscheint wenig plausibel.

Eher dürfte eine kontinuierlich zunehmende Verzögerung der Wachstumsgeschwindigkeit zutreffend sein, die über kürzere Bereiche angenähert exponentiell verlaufen mag, wie sie auch dem Verhalten der durch die PV-Konzentration 1:100 hervorgerufenen Sarkome entsprechen könnte.

Diese könnten ebenfalls im Rahmen der Werte nach exponentieller Gesetzmäßigkeit mit einer Verdoppelungszeit von 2,7 Tagen über die gesamte Versuchsdauer gewachsen sein. Gleiches müßte dann auch für das Wachstumsverhalten der durch natives PV induzierten Sarkome gelten, zumindest für den Volumenbereich von 30 bis 200 mm^3, den beide Konzentrationen gemeinsam im Beobachtungsintervall bestreichen. In diesem Fall ist es aber nur schwer einzusehen, warum sich beide Tumorpopulationen mit so unterschiedlicher Geschwindigkeit bei identischen Größenverhältnissen entwickeln sollten.

Geht man von einer mit wachsender Tumorgröße ebenfalls zunehmenden Verdoppelungszeit aus, dann befinden sich beispielsweise die Tumoren der genannten Konzentrationen im Größenbereich von 30 bis 200 mm^3 in einer Wachstumsphase mit annähernd gleicher Verdoppelungszeit von 3,5 Tagen. Diesem parallelen Verhalten entspricht auch die konstante Latenzzeitdifferenz zwischen den beiden PV-Konzentrationen. Da nun recht konstante Differenzen der Latenzzeit für die drei PV-Verdünnungen 1:1, 1:50 und 1:100 bestehen, liegt der Schluß nahe, daß alle Sarkome, die durch diese PV-Konzentrationen induziert wurden, bei gleicher Größe eine ähnliche Wachstumsrate aufweisen, d. h. die Wachstumsgeschwindigkeit ändert sich in Abhängigkeit von der Größe.
Aus einem summarischen Vergleich von Herdzahl und Volumenentwicklung folgt, daß die großen Gesamtvolumenunterschiede zu jedem Meßtermin für die drei höheren Konzentrationen zum großen Teil durch eine gesteigerte Herdzahl bei ähnlichem Volumen des Einzelherdes und weniger durch eine Einzelherdvolumenzunahme bei gleicher Anzahl der Einzelsarkome in einer Niere hervorgerufen werden. Letzteres trifft jedoch für die niedrigen Konzentrationen 1:50 und 1:100 zu.
Die PV-Verdünnung 1:50 erzeugt zwar ein Minimum an Sarkomherden pro Treffertier, die applizierte Virusmenge ist jedoch annähernd ausreichend, einen Sarkomknoten im Größenbereich derer zu induzieren, wie sie auch durch wesentlich höhere Konzentrationen verursacht werden. Eine Reduktion der Viruskonzentration unter 1:50 bewirkt eine Abnahme sowohl der Tumorrate als auch der Herdgröße (eine Herdzahl von 1 läßt sich bei einem tumortragenden Tier nicht vermindern). Dieser Befund steht nur zum Teil in Übereinstimmung mit den früheren Angaben anderer Autoren, die sich mit diesem Tumorsystem befaßten (GEORGII et al. 13, PRECHTEL et al. 30) und über Virusdosis-unabhängige Einzelherdgröße berichteten und deshalb die Möglichkeit eines monoklonalen Ursprungs der Tumorfoci nicht ausschließen konnten.

In der vorliegenden Arbeit bestehen zumindest für die geringen PV-Dosen deutliche Größenunterschiede bei Einzelherden, was die Annahme eines plurizellulären Ursprungs des einzelnen Tumorfocus stützt.

Eine deutlich nachhinkende Doppelseitigkeit der Sarkombildung, wie früher gefunden (GEORGII et al. 14), ist in diesen Versuchen nicht zu verzeichnen (Abb. 4), vielmehr läuft die Zahl der doppelseitig tumortragenden Tiere der Trefferquote in geringem bis mäßigem Abstand vom ersten Beobachtungstermin an parallel.

Die Wachstumsgeschwindigkeit der Sarkomvolumina scheint nicht mit der induzierenden PV-Menge zu korrelieren, die Volumenunterschiede zu den verschiedenen Zeitpunkten dürften lediglich Folge des gestaffelten Proliferationsbeginns bei gleichmäßiger Wachstumsrate sein, die sich abhängig von der Tumorgröße ändert.

DETHLEFSEN et al. (6) wiesen an größeren Serien von Mäuse-Mammatumoren statistisch fundiert nach, daß die Wachstumsgesetzlichkeit in Abhängigkeit zum Tumorvolumen steht, vom exponentiellen Verhalten bereits jenseits eines Volumens von 170 mm^3 abweicht und für ein Volumen um 1.000 mm^3 eine lineare Funktion zwischen Tumordurchmesser und Zeit darstellt, entsprechend dem Wachstumsverhalten, das KLEIN und RÊVÊSZ (20) für die gesamte beobachtete Proliferationsphase ihrer Ascitestumorstämme und deren solider Form fanden.

FRIDELL (9) beobachtete an einem Transplantat eines menschlichen Schilddrüsencarcinoms in der Hamsterbackentasche über 8 Tage eine exponentielle Wachstumsrate in der Größe der zugehörigen Generationszeit, bei einem Tumorvolumen von 200 mm^3 traten Zellnekrosen auf und damit eine Wachstumsverzögerung. Einen Tumorgrenzwert von 0,1 g für die Maus nennt STEEL (36), oberhalb dessen mit einer vermehrten Zelluntergangsrate (cell loss factor) zu rechen ist, die einen spürbar verringernden Effekt auf die Wachstumsgeschwindigkeit ausübt.

Ein exponentielles Wachstum bis zu dieser Größe läßt sich durchaus mit den Ergebnissen dieser Arbeit und Plausibilitätserwägungen vereinen. Diese Werte sind jedoch nicht geeignet, einen einigermaßen exakten Zeitpunkt festzulegen, zu dem ein Abweichen von diesem Proliferationsmodus wahrscheinlich ist. Dementsprechend ist es nicht zulässig, daß diese Werte auf komplexe mathematische Wachstumsfunktionen angewendet werden, wie sie LAIRD (21) und DETHLEFSEN (6) entwickelt haben, um die zunehmende, größenabhängige Wachstumsverzögerung formelmäßig zu erfassen.

Analysen der Ursachen der Abnahme der Wachstumsrate sind anderen Methoden als der hier angewendeten vorbehalten, wie vor allem der Autoradiographie. In der vorliegenden Arbeit konnte nur bilanzmäßig versucht werden, das mittlere Wachstumsverhalten durch "externe" Messungen am Gesamttumor zu erfassen. Für die hier wahrscheinlich gemachte ständige Abnahme der Wachstumsgeschwindigkeit scheint eine Änderung der Zyklusphasen, wie LALA und PATT (22) sie für Ehrlichs-Ascitestumor fanden, nicht zutreffend (GEORGII 13). Ob eine Abnahme der proliferierenden Tumorzellzahl (growth fraction), wie BASERGA (2) sie für Ehrlichs-Ascitestumor nachwies, als Erklärung zutreffend ist oder aber der Zellverlust unverhältnismäßig gesteigert ist, was STEEL für experimentelle (36) und humane Tumoren (37) untersucht hat, muß ebenso wie Kombinationen der erwähnten Möglichkeiten geprüft werden.
Das Aufstellen von Wachstumskurven, wie es hier geschah, ist Voraussetzung für weitere Analysen des Wachstums mit Bestimmung der Generationszeiten des PV-induzierten Tumors und seines Zellverlustes, der sich aus der Differenz zwischen einem potentiellen Tumorvolumen, das anhand von Wachstumsfraktion und Generationszeit errechnet wird, und dem tatsächlich gemessenen Tumorvolumen ergibt. Ergebnisse solcher Art liegen für diesen Tumor bereits vor (LANG 23).

Das durch die Münchner PV-Linie gewonnene Tumormodell erfordert für die Beobachtung seines summarisch gemessenen Wachstumsverhaltens einen hohen Aufwand an Material und Zeit im Vergleich zu den transplantierten Tumoren, die einfache, fortlaufende Messungen am selben Tierkollektiv gestatten. Jedoch dürfte dieses hier beschriebene wohl-definierte, wenn auch mehr komplexe System eines autochthonen Tumors den Bezug zur Humanpathologie leichter machen, deren besserem Verständnis schließlich diese Untersuchungen dienen sollen.

5.0 ZUSAMMENFASSUNG

Nach subcutaner Inokulation neugeborener Wistar-Ratten mit Polyomavirus entstehen fast ausschließlich Spindelzellsarkome der Niere. Untersucht wird an diesem Modell eines soliden, autochthonen Tumors das formale Geschwulstwachstum mit Bestimmung der Tumorquote, der Anzahl der multizentrischen Sarkomherde und des Tumorvolumens.
Durch 5 unterschiedliche Polyomavirusdosen wird eine große Zahl von Nierensarkomen induziert, die zu 4 verschiedenen Zeitpunkten mikroskopisch gemessen werden.
Das Tumorvolumen wird nach dem Punktzählverfahren in histologischen Serienschnitten der Nieren aufgrund einer Bestimmung der Flächenprozente ermittelt.
Die Auswertung wird eingeschränkt durch eine erhebliche Streuung vor allem der Sarkomvolumeneinzelwerte.
Ein Tumorwachstum nach exponentieller Gesetzmäßigkeit läßt sich nicht ausschließen. Besser mit den Ergebnissen zu vereinbaren ist eine Abnahme der Wachstumsgeschwindigkeit mit zunehmendem Sarkomvolumen.
Gefunden wird außerdem als Bestätigung früherer Befunde ein multizentrischer Beginn des Tumorwachstums und eine Virusdosis-Abhängigkeit der Zahl der Tumortiere, der Zahl der multizentrischen Sarkomknoten, des Tumorvolumens und der Manifestationszeit.
Die hier mitgeteilten Ergebnisse haben Bedeutung als Basis für weiterführende Untersuchungsmethoden dieses Tumormodells wie der Autoradiographie und sollen letztlich dem besseren Verständnis menschlicher Tumorgenese dienen.

6.0 LITERATURVERZEICHNIS

1. BATHER, R.:
   Growth charakteristics of the ROUS Nr.1 sarcoma grown in the peritoneal cavity of chickens.
   Brit.J.Cancer 8,535-44(1954)
2. BASERGA,R.:
   Mitotic cycle of Ascites tumor cells.
   Arch.Path.75, 156-61(1963)
3. BASERGA,R.,KISIELSKI,W.E.,and HALVORSEN,K.:
   A study on the establishment and growth of tumor metastases with tritiated thymidine.
   Cancer Res.20, 910-17(1960)
4. BERGER,S.M.,INGLEBY,H.,and GERSHON-COHEN,J.:
   Roentgenography and biopsy in mammary cancer.
   Radiology 73, 891-95(1959)
5. COLLINS,V.P.,LOEFFLER,R.K.,and TIVEY,H.:
   Observations on growth rates of human tumors.
   Amer.J.Roentg.76, 988-1000(1956)
6. DETHLEFSEN,L.A.,PREWITT,J.M.S.,and MENDELSOHN,M.L.:
   Analysis of tumor growth curves.
   J.Nat.Cancer Inst.40, 389-405(1968)
7. EDDY,B.E.,STANTON,ST.S.E.,and MARGOTTE,J.M.:
   Induction of tumors in rats by tissue culture preparations of SE-polyoma-virus.
   J.Nat.Cancer Inst.22, 161-71(1959)
8. FLOCKS,J.S.,WEIS,T.P.,KLEIMAN,D.C.,and KIRSTEN,W.H.:
   Dose-response studies to polyoma-virus in rats.
   J.Nat. Cancer Inst.35, 259-84(1965)
9. FRIEDELL,G.H.,SHERMAN,J.D.,and SOMMERS,S.C.:
   Growth curves of human cancer transplants during experimental chemotherapy.
   Cancer 14, 1117-1121(1961)

10. GERSHON-COHEN,J.,BERGER,S.M.,and KLICKSTEIN,H.S.:
Roentgenography of breast cancer moderating concept of "biologic" predeterminism.
Cancer 16, 961-64(1963)

11. GERSTENBERG,E.:
Die Tumorverdoppelungszeit, ihre röntgenologische Bestimmung und ihre Bedeutung für die Röntgendiagnostik.
Fortschr. Röntgenstr. 101, 39-46(1964)

12. GEORGII,A.:
Über die Bedeutung der onkogenen Viren für die Entstehung von Geschwülsten des Menschen.
Krebsforsch. Krebsbekämpf. 6, 15-34(1967)

13. GEORGII,A.,FEINDT,A.,ZOBL,H.und PRECHTEL,K.:
Größenwachstum und Zellkinetik bei Polyomainduzierten Sarkomen.
Fortschr. Krebsforsch., dtsch. Ztraussch. Krebsbekämpf. 10. wiss. Tag. 385-88(1969)

14. GEORGII,A.,PRECHTEL,K.und LUDWIG,B.:
Die unterschiedliche replikative und transformative Wirkung von Polyomavirus bei Mäusen, Hamstern und Ratten.
Zbl. Vet.med. 15, 56-64(1968)

15. GEORGII,A.,PRECHTEL,K. und ZOBL,H.:
Sarkombildung durch Polyomavirus in der Niere von Ratten.
Z. Krebsforsch. 72, 1-11(1969)

16. GRAFFI,A.,GRIMMY,J.und KRAUSE,L.:
Über ein polyvalentes Sarkomvirus der Ratte.
Naturwiss. 46, 330(1959)

17. HENNIG,A.:
Kritische Betrachtungen zur Volumen- und Oberflächenmessung in der Mikroskopie.
Zeiss-Werkschr. 30, 78-86(1958)

18. INGLEBY,H.,MOORE,L.,and GERSHON-COHEN,J.:
Roentgenographic study of growth rate of 6 "early" cancers of the breast.
Cancer 11, 726-30(1958)

19. KIRSTEN,W.-H.,ANDERSON,P.G.,PLATZ,G.E.,and CROMWELL,E.B.:
Observation on the morphology and frequency of polyoma tumors in rats.
Cancer Res. 22, 484-91(1962)

20. KLEIN,G.,RÉVÉSZ,L.:
Quantitative studies on the multiplication of neoplastic cells in vivo. 1.Growth curves of Ehrlich and MC1M-ascites tumors.
J.Nat.Cancer Inst. 14, 229-79(1953)

21. LAIRD,A.K.:
Dynamics of tumor growth.
Brit.J.Cancer 18, 490-502(1964)

22. LALA,P.K.,and PATT,H.M.:
Cytokinetic analysis of tumour growth.
Proc.Nat.Acad.Sci.(Wash.) 56, 1735-42(1966)

23. LANG,W.,ZOBL,H.,SIEGISMUND,G.und GEORGII,A.:
Proliferationskinetik von Polyomavirus-induzierten Nierensarkomen.
Dtsch. Krebsges., dtsch. Krebskongr.1971(Hannover)
11. wiss. Tag. (in Druck)

24. LIEB,L.M.,and LISCO,H.:
In-vitro uptake of tritiated thymidine by carcinoma of the human colon.
Cancer Res. 26, 733-40(1966)

25. MENDELSOHN,M.L.:
Autoradiographic analysis of cell proliferation in spontaneous breast cancers of C3H-mouse. 3. The growth fraction
J.Nat.Cancer Inst. 28, 1015-29(1962)

26. NEUER,H.:
Mengenanalyse mit dem Mikroskop.
Zeiss-Informationen 60, 65-69(1966)

27. OESER,H.,KROKOWSKI,E. und GERSTENBERG,E.:
Die Bedeutung der Verdoppelungszeit von Tumoren für die Krebsbekämpfung.
Münch.Med.Wschr. 106, 675-680(1964)

28. PATT,H.M.,and BLACKFORD,M.E.:
Quantitative studies of the growth response of the Krebs-ascites tumor.
Cancer Res. 14, 391-96(1954)

29. PRECHTEL,K.,ZOBL,H. und GEORGII,A.:
Sarkombildung durch Polyomavirus in der Niere von Ratten.
Verhandl. Dtsch. Ges. Path. 51, 354-356(1967)

30. PRECHTEL,K.,ZOBL,H.,HERZOG,L.und GEORGII,A.:
Über das Wachstum von Polyomavirus-induzierten Nierensarkomen.
Verhandl. Dtsch. Ges. Path. 52, 408-10(1968)

31. SPRATT,J.S.,and ACKERMANN,L.V.:
Small primary adenocarcinomas of the colon and rectum.
J.Amer.Med.Ass. 179, 337-46(1962)

32. SPRATT,J.S.:
The rates of growth of skeletal sarcomas.
Cancer 18, 14-24(1965)

33. SPRATT,J.S.,SPJUT,H.J.,and ROOPER,C.L.:
The frequency distribution of the rates of growth and the estimated duration of primary pulmonary carcinoma.
Cancer 16, 687-93(1963)

34. SPRATT,J.S.,and SPRATT,T.L.:
Rates of growth of pulmonary metastases and host survival.
Ann. Surg. 159, 161-71(1964)

35. STEEL,G.G.,ADAMS,K.,and BARRETT,J.C.:
Analysis of the cell population kinetics of transplanted tumors of widely-differing growth rate.
Brit.J.Cancer 20, 784-800(1966)

36. STEEL,G.G.:
Cell loss from experimental tumors.
Cell Tiss. Kin. 1, 193-207(1968)

37. STEEL,G.G.:
Cell loss as a factor in the growth rate of human tumors.
Europ.J.Cancer 3, 381-87(1967)

38. TILLMANN,B.,LENNARTZ,K.J.und EDER,M.:
Quantitative Untersuchungen zum Wachstumsverhalten des diploiden Ehrlich- und des MCaI-Ascitestumors der Maus.
Ztsch. Krebsforsch. 70, 295-302(1968)

39. WELIN,S.,YONKER,J.,SPRATT,J.S.,andLINNEL,F.:
The rates and patterns of growth of 375 tumors of the large intestine and rectum observed serially by double contrast enema study (Malmö technique).
Amer.J.Roentg. 90, 673-87(1963)

40. WOLFF,G.:
Über das Wachstum menschlicher Geschwülste.
Arch. Geschwulstforsch. 29 /1, 98-108(1967)

41. ZOBL,H.,SIEGISMUND,G.,LANG,W. und GEORGII,A.:
Autoradiographische Untersuchungen an Nieren von Polyomavirus-infizierten Ratten.
Verhdl.Dtsch.Ges.Path. 55, 651-54(1971)

ADDENDUM

Herrn Priv.-Doz. Dr. K. Prechtel danke ich für die Unterstützung bei dem Fertigstellen der Arbeit.

Herrn Dr.-Ing. A. Hennig (Anatomisches Institut der Universität München) gilt mein Dank für freundliche Beratungen.

LEBENSLAUF

Ich wurde am 29.9.1944 als Sohn des Majors Hans Joachim Bergius und seiner Ehefrau Anneliese, geb. Lehnhoff, in Reichenberg, Kreis Oberbarnim geboren.
Nach Besuch der Volksschule zunächst in Bremen, dann in Wilhelmshaven und der sprachlichen Humboldtschule in Wilhelmshaven erhielt ich am 19.2.1964 das Reifezeugnis.

Mit dem Medizinstudium begann ich im Sommer 1964 an der Universität Freiburg, wo ich im Herbst 1966 das Physikum ablegte.
Nach jeweils einem Semester in Innsbruck und Kiel studierte ich an der Universität München. Dort wurde das medizinische Staatsexamen am 3.6.1970 beendet.
Während der Medizinalassistentenzeit arbeitete ich an der Hals-Nasen-Ohrenklinik und der 1. Medizinischen Klinik der Universität München sowie in der chirurgischen Abteilung des Kreiskrankenhauses Wertingen.
Im Februar 1971 fand meine Vermählung mit Magdalena Bayer statt.
Die Approbation erhielt ich am 4.2.1972 .
Die hier vorgelegte Arbeit wurde während der klinischen Semester am Pathologischen Institut der Universität München begonnen und nach der Medizinalassistentenzeit fertiggestellt.